

ANÁLISIS DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA EN EL CERDO PELÓN MEXICANO (Sus scrofa) MEDIANTE EL USO DE MARCADORES GENÉTICOS A NIVEL ADN.F. SALMERON*³, C. LEMUS², R. ULLOA³, y R. ALONSO¹.¹ FACULTAD DE MEDICINA, DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA, LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR-UNAM ² ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT. ³ FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, DEPARTAMENTO DE GENÉTICA Y BIOESTADÍSTICA. UNAM. FAX (91-5) 6232382**INTRODUCCION**

En las regiones tropicales de México, aún existe una variedad nativa de cerdo conocida como Pelón Mexicano que se caracteriza por ser de color grisáceo, o negro pizarra y carece de pelo, este animal representa una alternativa en la porcicultura de esta zona por su gran rusticidad, su capacidad para digerir gran variedad de plantas forrajeras, frutas, raíces, tubérculos, subproductos agrícolas; y por su aparente resistencia a las enfermedades de manera natural. El cerdo Pelón Mexicano geográficamente se encuentra localizado en las costas del Golfo de México y del Pacífico principalmente (5).

Debido a la constante introducción de razas mejoradas de cerdos en las explotaciones porcinas, el cerdo Pelón Mexicano está en peligro de extinguirse como grupo genético único. Sin embargo, se debe considerar que su germoplasma es un patrimonio genético único no renovable, y que estos animales probablemente poseen algunas características comerciales útiles determinadas genéticamente, especialmente en lo que se refiere a la resistencia a enfermedades y a la adaptación a condiciones climáticas extremas. Estas poblaciones pueden representar recursos genéticos valiosos, porque sus reservorios de diversidad genética única que podrían enriquecer y renovar en un futuro la variabilidad genética de las líneas comerciales de cerdos. El cerdo Pelón puede representar una base importante para la mejora de animales comerciales que se desean introducir a condiciones tropicales mediante la creación de razas sintéticas, o como punto de partida para la creación de razas genéticas porcinas autóctonas mejoradas.

Por otro lado, el conocimiento sobre la variabilidad genética en el cerdo pelón es nulo, no se conoce que tan homogéneos son los distintos grupos poblacionales en las diferentes regiones geográficas, no hay información acerca de que tan parecidas o distantes son genéticamente las diferentes poblaciones de cerdo Pelón, así como tampoco se sabe que tan diferentes son éstos de las razas comerciales, y existen dudas sobre su origen. Es importante conocer la variabilidad genética en estos animales para poder tomar decisiones respecto a su preservación.

El empleo de marcadores genéticos hipervariables es uno de los recursos metodológicos para evaluar la diversidad genética en poblaciones animales (1). El análisis molecular de los genomas de organismos eucariotes ha mostrado que existen diversas y abundantes poblaciones de ácido desoxirribonucleico (ADN) con extensa variabilidad. Las secuencias de ADN que exhiben hipervariabilidad genética son generalmente secuencias de baja complejidad que se encuentran altamente repetidas, organizadas en tandem y dispersas por el genoma, y se caracterizan por presentar un extenso polimorfismo genético. Estos grupos de secuencias son conocidos como Minisatélites y Microsatélites (2). La manera de revelar el polimorfismo de estos grupos de secuencias es a través de experimentos de tipo Southern blot. El resultado es complejo, ya que llegan a detectarse de 20 a 50 bandas diferentes (3) Estas bandas son altamente polimórficas en las poblaciones y generan patrones únicos en los individuos, por lo que se les conocen como huellas digitales del ADN. Estos marcadores genéticos han sido utilizados en el ser humano con gran éxito en medicina forense, pruebas de paternidad determinación de cigocidad en gemelos, análisis de ligamiento genético, estudios de trasplantes de tejidos, y en poblaciones de animales para determinar distancias genéticas y estudios de consanguinidad y parentesco, entre otras aplicaciones (1,2,3).

El propósito de este trabajo fue utilizar marcadores genéticos a nivel de ADN para: a) Evaluar los niveles de diversidad genética existentes en diferentes poblaciones de cerdos Pelones y de raza comercial; y b) Determinar los índices de similitud existentes en estas poblaciones.

MATERIAL Y METODOS

Para evaluar los niveles de diversidad genética se empleó análisis de huellas genéticas en experimentos "southern" blot empleando como sonda un oligonucleótido sintético (GGAT₅) marcado radioactivamente.

Se colectaron muestras de sangre de cerdos de razas comerciales: Landrace (L), Yorkshire (Y), Hampshire (H), Duroc (D), Large White (LW) y de Cerdo Pelón Mexicano (CPM) procedente de los estados de Guerrero y Nayarit (ver Cuadro 1) **Métodos de Biología Molecular**

El proceso para la obtención de huellas genéticas de ADN consiste en purificar el ADN a partir de la sangre, la digestión de este con una enzima de restricción (HaeIII); separación de los fragmentos generados en geles de agarosa, su transferencia a filtros de nylon (transferencia tipo Southern), hibridación con la sonda marcada radioactivamente, lavado de la membrana y autorradiografía por métodos convencionales de laboratorio.

Con las muestras disponibles se corrieron cinco geles que contenían diferentes grupos poblacionales: Gel 1: L y CPM de Nayarit. Gel 2: CPM de Nayarit. Gel 3: CPM de tres localidades de Nayarit: Huajicori (HUA), San Diego (SD) y Tamarindo (TAM). El Gel 4: 5 razas comerciales. Gel 5 CPM de Guerrero, L y H.

Evaluación y Análisis de la Información de los Patrones de Bando de cada Individuo. Una vez obtenidas las huellas genéticas de cada individuo, los patrones de bando se analizaron con el programa de cómputo GEL WORKS, con este programa se asignaron los pesos moleculares de las bandas presentes en cada patrón, para generar las matrices de ausencia y presencia de bandas que fueron seleccionadas de un tamaño molecular mayor de 2 Kb por considerarse las más informativas. Se compararon los patrones de bando de cada individuo contra todos los demás, en cada uno de los geles

Se estimó la frecuencia de bandas compartidas, el índice de similitud (IS) y el grado de heterocigocidad (He). Estos parámetros están basados en el análisis de bandas compartidas según Nei 1987 (4).

RESULTADOS Y DISCUSION

El cuadro 1 muestra el número de bandas individuales y compartidas que se observaron en los individuos en cada gel, así como las bandas totales. El total de bandas diferentes identificadas por individuo, varió de 38 a 41. Estos datos demuestran el gran número de marcadores genéticos que pueden ser detectados por esta metodología. Así mismo, el número de bandas por individuo varió de 4 a 26. En cambio, las bandas que se compartieron varió de 0 a 19. Estos valores muestran los niveles de variabilidad genética que pueden ser detectados por estos procedimientos de biología molecular.

Cuadro 1. Número de bandas identificadas por individuo, compartidas con otro individuo, y bandas totales detectadas.

	Bandas/ Individuo				Bandas Compartidas/individuo			TOTALES
	N	MIN	MAX	PROM	MIN	MAX	PROM	
GEL 1	17	8	16	12.06	1	10	4.95	38
GEL 2	16	11	18	14.56	0	11	7.24	40
GEL 3	15	8	14	12.13	0	9	4.41	41
GEL 4	20	4	15	10.70	0	9	4.54	36
GEL 5	20	7	26	17.90	1	19	9.56	41

N= Número de individuos analizados por gel. MIN= Número mínimo de bandas detectadas/individuo. MAX= Número máximo de bandas detectadas/individuo. PROM= Número promedio de bandas detectadas/individuo. TOTALES= Número total de bandas diferentes detectadas/gel.

A partir de la frecuencia de las bandas compartidas se calculó el índice de similitud genética promedio dentro de cada población. Los promedios estimados de IS se muestran en el Cuadro 2. Sin embargo los valores entre los individuos variaron enormemente. En el caso de CPM varió de 0.21 a 0.80. En LW de 0.38 a 0.69. En L de 0.18 a 0.72 y en D varió de 0.53 a 0.75. Estos datos indican que los individuos CPM y L tienen a la vez las mayores distancias genéticas, así como el más alto nivel de similitud. En cambio los individuos D aparentan ser menos heterogéneos genéticamente. Estos hallazgos muestran que en explotaciones donde se desea incrementar el vigor híbrido, puede ser muy importante el determinar los IS en los sementales disponibles, en relación a las reproductoras. Pudiendo así elegir al semental con valores IS menores para aumentar en sus descendientes los niveles de heterosis.

El cuadro 2 muestra los valores estimados de He promediada en los grupos genéticos. Se encontró que en general los CPM tienen valores más altos: esto sugiere cruza con poblaciones comerciales ó a que las poblaciones son muy diversas y que los animales no han estado sujetos a un proceso de selección sistematizado. Estas dos alternativas podrían ser resueltas al estudiar que tantas bandas en los CPM son compartidas con las razas comerciales. Es interesante observar que entre los grupos Nayarit y Guerrero de CPM (geles 1, 2, 3 y 5), los valores de He son semejantes; y dentro de los CPM de Nayarit (gel 3), los valores en tres localidades muestran diferencia numérica, siendo la He menor la correspondiente a la localidad de Tamarindo. Esto podría explicarse porque las poblaciones de Tamarindo posiblemente son pequeñas y se tiende a practicar la consanguinidad. Al comparar los CPM y las razas comerciales (geles 1 y 5), se observó que la raza L tienen los valores más altos de He, pero semejantes al CPM. Las razas LW, D y H (gel 4) tienen valores medios de He, mientras que en H (gel 5) y Y (gel 4), se observaron los valores de He bajos. Los valores de He bajos sugieren una reducción en la heterogeneidad genética, que puede deberse a los altos niveles de selección ejercidos y a uso de unas pocas líneas familiares como pies de cría. La comparación entre geles no fue posible debido a la falta de una metodología confiable y práctica, que no está completamente desarrollada, desventaja que se ha superado en el uso de microsatélites locus específicos.

Cuadro 2. Heterocigocidad (He) e Índice de Similitud (IS) calculado en cada Población.

GEL	1		2		3		4		5					
	P	CPM Nayarit	CPM Nayarit	HUA	SD	TAM	LW	L	D	H	Y	CPM Gro	L	H
N	6	11	16	6	6	3	4	6	6	2	2	12	6	2
IS	0.22	0.41	0.29		0.35*		0.51	0.35	0.61	0.4	0.46			0.52
He	0.71	0.74	0.67	0.81	0.73	0.56	0.58	0.74	0.50	0.57	0.39	0.70	0.44	0.29

N= Número de individuos analizados. P= Población

BIBLIOGRAFIA.

- Gilbert D., Packer C., Pusey E., Stephens J.C., and O'Brien S. (1991) J. Hered. 82:378-386.
- Georges M., Lequarre A.S., Castelli M., Hansel R. and Vassart G. (1988) Cytogenetics and Cell. Genet. 47:127-131.
- Jefferys A.J., Rowe N.J., Patel L., Armauer J.A., Macleod, A., Callick A., Gray, L.C., Neumann R., Gibbs M. and Croster M. (1991) Experientia Supplementum, 58:1-19.
- Nei M. (1987) Columbia University Press, U.S.A.
- Salmas R.G. (1996) Tesis de Licenciatura de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM México.